

Acción *in vitro* de especies de *Chrysosporium* sobre huevos de *Toxocara canis* observada por microscopía electrónica de barrido

In vitro action of *Chrysosporium* species against *Toxocara canis* eggs observed by scanning electron microscopy

María Viviana Bojanich¹, María de los A. López¹, Gustavo Giusiano², Juan Á Basualdo³

El parasitismo fúngico sobre los huevos de nematodos es un fenómeno natural que puede ser usado en el control biológico de los mismos en el ambiente. El grado de antagonismo ejercido por los hongos sobre el desarrollo de los geohelminthos varía dependiendo de la especie fúngica. Un hongo saprófito puede presentar efectos ovicidas u ovistáticos, provocando daños en la cubierta del huevo y/ o en el desarrollo del embrión.

El presente trabajo tiene como objetivo observar la acción de los hongos *Chrysosporium indicum* y *Chrysosporium keratinophylum* sobre huevos de *T. canis in vitro* mediante microscopía electrónica de barrido.

Materiales y métodos

Los hongos fueron aislados de suelos colectados de áreas de juego y recreación de parques y plazas de la ciudad de Corrientes, Argentina. Cada muestra de tierra y/o arena consistió en 200-250 g tomados 1 a 3 cm por debajo de la superficie. Para el aislamiento fúngico se utilizó la técnica del "anzuelo queratínico" que consiste en colocar las muestras de tierra en placas de Petri de 10 cm de diámetro y, sobre ellas, fragmentos de cabello de niños previamente esterilizados. Se incubaron en estufa a 28°C durante 60 días. Los hongos desarrollados se clasificaron por observación macro y microscópica utilizando las referencias correspondientes. Los huevos fueron obtenidos a partir de hembras adultas de *T. canis* y descontaminados con hipoclorito de sodio diluido. Posteriormente se realizó el cultivo de los huevos de *T. canis* en presencia del hongo elegido en agar agua 2% a 28°C durante 28 días. Se trabajó con un grupo control sin hongos y a las que solo se le agregó la suspensión de huevos. Los días 4, 7, 14, 21 y 28 post-cultivo, 100 huevos fueron colectados para su observación por microscopía electrónica de barrido (MEB, JEOL –JSM 5800 LV), tanto del grupo control como del grupo experimental. La acción de los hongos sobre los huevos fue evaluada según las alteraciones sufridas en la superficie y los cambios en las características normales de los mismos.

Resultados

Se recolectaron 53 muestras de suelo entre parques y plazas de la ciudad. De ellas se aislaron 34 géneros en total e identificadas 60 especies. Para estudiar la acción sobre huevos de *T. canis*, se seleccionó el género *Chrysosporium* con sus especies, *C. indicum* y *C. keratinophylum*, que fueron las más frecuentes, 68.2% y 77.3% respectivamente.

Las interacciones observadas sobre los huevos de *T. canis* por MEB fueron: hifas rodeando los huevos, hifas penetrando la cubierta y cambios en la membrana característica del huevo. El tipo de acción que ejerce cada uno de estos hongos, se corresponde, según la clasificación de Lysek, a una interacción de tipo 2 (los hongos con sus metabolitos destruyen la cubierta de los huevos y el embrión queda a expensas de la acción de los hongos y es destruido). En los huevos del grupo control, la cubierta se mantuvo intacta sin alteraciones morfológicas.

Conclusiones

Chrysosporium fue el género más frecuente en este estudio. Este es un género constante y dominante, en toda la zona norte del país, es de distribución cosmopolita y en diferentes tipos de suelo. Dentro de este género, la especie *C. merdarium* fue estudiado por Ciarmela (2010) en la ciudad de la Plata, y ha sido caracterizado como con "muy alta" actividad ovicida, aunque esta especie no ha podido ser recuperada aún de los suelos de la ciudad de Corrientes.

Sería importante profundizar las investigaciones para determinar los mecanismos (químicos y/o mecánicos) utilizados por estos hongos para destruir total o parcialmente a los huevos de *T. canis*.

Bibliografía

1. Blaszkowska J, et al. Biological interactions between soil saprotrophic fungi and *Ascaris suum* eggs. Vet. Parasitol. 2013, <http://dx.doi.org/10.1016/j.vet-par.2013.02.029>
2. Lysek, H y Nigenda, G. Capacidad de autodesheminización del suelo. Salud Pública Mex. 1989, 31: 763-771.
3. De Souza Maia Filho F, Nunes Vieira J, Aires Berne ME, Stoll FE, Da Silva Nascente P, Pötter L, Brayer Pereira DI.

- Fungal ovidal activity on *Toxocara canis* eggs. Rev Iberoam Micol. 2013; 30(4):226–230.
4. Mangiaterra M, Giusiano G, González I. Algunos microhongos geofílicos de las planicies semiáridas del noroeste de la provincia de San Luis (Argentina). Bol. Micológico 2006; 21:43-48
 5. Gortari MC, Galarza BC, Cazau MC, Hours RA.) Comparison of the biological properties of two strains of *Paecilomyces lilacinus* (Thom) Samson associated to their antagonistic effect onto *Toxocara canis* eggs. Mal. J. Microbiol, 2008; 4(2): 35-41.
 6. Basualdo JA, Ciarmela ML, Sarmiento PL, Minvielle MC. Biological activity of *Paecilomyces* genus against *Toxocara canis* eggs. Parasitol Res., 2000; 86: 854-859
 7. Ciarmela ML, Arambarri AM, Basualdo JA y Minvielle MC. Effect of saprotrophic soil fungi on *Toxocara canis* eggs. Malaysian Journal of Microbiology, 2010; 6 (1): 75-80.

Palabras clave: *Chrysosporium*, microscopía electrónica de barrido, *Toxocara canis*.

(1) Cátedra de Microbiología General, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales y Agrimensura, UNNE. Corrientes, Argentina. mavibojanich@yahoo.com.ar y mangeleslopez@yahoo.es. (2) Área de Micología, Instituto de Medicina Regional, UNNE. Resistencia, Chaco, Argentina. gustavogiusiano@yahoo.com.ar. (3) Cátedra de Microbiología y Parasitología, Facultad de Ciencias Médicas, UNLP. La Plata, Buenos Aires, Argentina. jabasua@med.unlp.edu.ar

Aislamientos atípicos de *Toxoplasma gondii* en gallinas de la provincia de Misiones, Argentina

Atypical isolates of *Toxoplasma gondii* from chickens from Misiones province Argentina

Lais Pardini^{1,2*}, Gastón Moré^{1,2}, Marcelo Rudzinski³, María L. Gos^{1,2}, Alejandro Meyer³,
Lucía M. Campero^{1,2}, María C. Venturini¹

Toxoplasma gondii es un protozoo apicomplexa que puede infectar humanos y una amplia variedad de animales. La toxoplasmosis puede ocasionar signología clínica y lesiones variables acordes a la susceptibilidad de los hospedadores y comportamiento biológico del parásito. En habitantes del sudeste de la provincia de Misiones se ha registrado una elevada proporción de de retinocoroiditis toxoplásmica y la frecuencia de reactivaciones estaría, asociada a las épocas de lluvias intensas.

En Sudamérica, especialmente en Brasil, se ha detectado la presencia de aislamientos de *T. gondii* genotípicamente no canónicos con elevada virulencia. Es importante conocer la variedad de genotipos que circulan en Argentina dado que podrían estar relacionados con casos clínicos en humanos y en animales. Se ha demostrado que las gallinas de traspatio son un excelente indicador epidemiológico de la contaminación del suelo con formas infectantes de *T. gondii*. El objetivo del presente estudio fue detectar, aislar y genotipificar *T. gondii* a partir de tejidos de gallinas provenientes de las granjas de los pacientes con retinocoroiditis toxoplásmica.

Materiales y métodos

Se obtuvieron muestras de sistema nervioso central (SNC) de 20 gallinas provenientes de granjas familiares ubicadas en la región sudeste de la provincia de Misiones.

Se extrajo ADN del total de las muestras y se analizaron por técnicas moleculares: Inicialmente se detectó la presencia de *T. gondii* mediante PCR con el par de *primers* TOX5-TOX8. Las muestras positivas se genotipificaron mediante nPCR-RFLP para 9 marcadores génicos (SAG2, BTUB, GRA6, SAG3, PK1, L358, C22-8, C29-2, Apico). Para el aislamiento, se inocularon homogenatos de SNC de 13 gallinas en ratones GKO para interferón gamma. Los aislamientos ob-

tenidos también fueron genotipificados a partir de muestras de ratón y cultivo celular.

Resultados

Se detectó ADN de *T. gondii* en el 35% (7/20) de las muestras. Los resultados de la genotipificación por nPCR-RFLP de las muestras de SNC positivas se detallan en la Tabla 1.

A partir del SNC de las gallinas 11-9 y 13-5 se obtuvieron aislamientos que se mantienen por pasaje en ratones y cultivo celular; la genotipificación de los aislados resultó idéntica a la de la muestra original (Tabla 1).